甘氨酸对脂多糖刺激仔猪肝脏能量代谢及相关基因表达的调控作用

张 琳 王秀英 吴欢听 王海波 陈少魁 朱惠玲 刘玉兰*

（武汉轻工大学动物营养与饲料科学湖北省重点实验室，武汉 430023）

摘 要：本试验旨在研究甘氨酸（Gly）对脂多糖（LPS）刺激断奶仔猪肝脏能量代谢、能量代谢关键酶和相关调节因子 mRNA 表达的调控作用。选取 24 头杜×长×大仔猪，分成 4 个组，每组 6 个重复。4 个组分别为：1）对照组（基础饲粮）；2）LPS 组（LPS+基础饲粮）；3）1.0%Gly 组（LPS+基础饲粮+1.0%Gly）；4）2.0%Gly 组（LPS+基础饲粮+2.0%Gly）。试验第 28 天，试验组仔猪腹膜注射 100 μg/kg BW 的 LPS，对照组注射等量的生理盐水。试验猪于注射 LPS 或生理盐水 4 h 后屠宰，取肝脏样品待测。结果表明：1）与 LPS 组相比，1.0%Gly 显著提高了仔猪肝脏三磷酸腺苷（ATP）浓度和能荷（EC）水平（$P<0.05$），显著降低了（一磷酸腺苷）AMP/ATP 值（$P<0.05$），并有降低 AMP 浓度的趋势（$P<0.10$）；2.0%Gly 有降低 AMP/ATP 值的趋势（$P<0.10$）。2）与 LPS 组相比，1.0%Gly 显著降低了仔猪肝脏己糖激酶 2（*Hexok*2）和柠檬酸合成酶（*CS*）的 mRNA 表达量（$P<0.05$）；2.0%Gly 显著降低了肝脏 *Hexok*2 和丙酮酸激酶（*PK*）的 mRNA 表达量（$P<0.05$），并有降低肝脏 *CS* mRNA 表达量的趋势（$P<0.10$）。3）与 LPS 组相比，1.0%Gly 显著提高了仔猪肝脏腺甘酸活化蛋白激酶 α1（*AMPKα*1）的 mRNA 表达量（$P<0.05$）。综上所述，饲粮中添加 Gly 能够改善 LPS 刺激引起的断奶仔猪肝脏能量代谢紊乱，调控糖酵解和三羧酸循环等代谢途径中相关酶的表达。

关键词：仔猪；脂多糖；甘氨酸；肝脏；能量代谢

中图分类号：S828 文献标识码： 文章编号：

肝脏是动物机体重要的免疫器官，也是机体进行物质和能量代谢的重要场所。脂多糖（lipopolysaccharide,LPS）是革兰氏阴性细菌外膜特有的结构成分，能够造成机体免疫应激[1]。研究发现，动物处于免疫应激状态时，机体免疫细胞被激活并产生和释放大量炎性细胞因子，导致肝脏炎症反应，增加肝脏能量损耗，导致肝脏结构和功能的损伤[2]。

甘氨酸（glycine,Gly）是所有氨基酸中结构最简单的氨基酸，也是一种机体自身能合成的非必需氨基酸，在机体内发挥着重要的作用。作为一种功能性氨基酸，Gly 能够抑制内毒素造成的肝脏损伤[3]，保护肝细胞免受三磷酸腺苷（adenosine triphosphate,ATP）衰竭的影响[4]。此外，Gly 作为生糖氨基酸，可以经过分解生成丙氨酸（alanine,Ala），而 Ala

---

收稿日期：2016－06－02

基金项目：湖北省教育厅优秀中青年科技创新团队项目（T201508）

作者简介：张 琳（1991－），女，湖北枣阳人，硕士研究生，从事猪的营养生理与机理调控的研究。E-mail: 2223102573@qq.com

*通信作者：刘玉兰，教授，硕士生导师，E-mail: yulanflower@126.com

可进一步进入三羧酸循环，为机体提供能量[5]。Gly 也是合成谷胱甘肽（glutathiose,GSH）的前体物质[5]，而还原型 GSH 可以参与体内三羧酸循环及糖代谢，使机体获得高能量[6]。Wang 等[7]报道，饲粮中添加 0.5%、1.0%和 2.0%的 Gly 提高了哺乳仔猪抗氧化应激能力。仔猪饲粮中添加不多于 2%的 Gly，对其正常的生理功能和采食是安全且有益的[8]。但是，过多的 Gly 则会导致机体氨基酸平衡的破坏并产生毒性作用[9]。尽管 Gly 有很多重要的功能，但是关于 Gly 对仔猪肝脏能量代谢的影响还鲜有研究。因此，本试验通过给断奶仔猪注射 LPS 建立免疫应激模型[10]，选取 1%和 2% 2 个浓度，研究 Gly 对 LPS 应激仔猪肝脏能量代谢障碍有无缓解作用及 Gly 的适宜添加量。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

Gly：有效成分>99.5%，购于武汉阿米诺科技有限公司。Ala：有效成分>99.5%，购于武汉阿米诺科技有限公司。LPS：大肠杆菌血清型 O55∶B5，购于 Sigma 公司，以 100 μg/kg BW 剂量注射。

1.2 试验动物与设计

选择 24 头体况相近的（21±1）日龄断奶仔猪[杜×长×大，平均体重(7.17±0.41) kg]，按体重相近原则随机分配到 4 个组中，每组 6 个重复，每个重复 1 头猪，试验期为 28 d。4 个组分别为：1）对照组（基础饲粮）；2）LPS 组（LPS+基础饲粮）；3）1.0%Gly 组（LPS+基础饲粮+1.0%Gly）；4）2.0%Gly 组（LPS+基础饲粮+2.0%Gly）。用 Ala 对各组饲粮进行等氮处理。试验第 28 天，试验组仔猪腹膜注射 100 μg/kg BW 的 LPS，对照组注射等量的生理盐水。饲养期间，猪舍温度控制在 25～28 ℃。猪栏面积 1.20 m×1.10 m。粉料饲喂，仔猪自由采食和饮水。

1.3 试验饲粮

饲粮配制参照 NRC（1998）仔猪的营养需要，基础饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	57.47
豆粕 Soybean meal	22.00
鱼粉 Fish meal	6.00
次粉 Wheat middling	6.00
代乳粉 Milk-replacer powder	4.00
豆油 Soybean oil	1.20
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.00
石粉 Limestone	0.65
L–赖氨酸盐酸盐 *L*-Lys•HCl	0.32
丁基对苯二酚 TBHQ	0.05

食盐 NaCl	0.31
预混料 Premix[1)]	1.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]	
消化能 DE/(MJ/kg)	13.60
粗蛋白质 CP	20.00
赖氨酸 Lys	1.14
蛋氨酸 Met	0.38
色氨酸 Trp	0.25
苏氨酸 Thr	0.78
总磷 TP	0.70
总钙 TCa	0.80

[1)] 预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet：VA 12 000 IU，VB_1 1.5 mg，VB_6 3 mg，VB_{12} 18 μg，VD_3 2 500 IU，VE 30 IU，VK_3 3 mg，核黄素 riboflavin 4 mg，烟酸 nicotinic acid 40 mg，氯化胆碱 choline chloride 400 mg，叶酸 folic acid 700 μg，泛酸 pantothenic acid 15 mg，生物素 biotin 100 μg，Mn 20 mg，Se 0.36 mg，Zn 80 mg，Cu 25 mg，Fe 83 mg，I 0.48 mg。

[2)] 消化能、赖氨酸、蛋氨酸、色氨酸和苏氨酸为计算值，其余为实测值。DE, Lys, Met, Trp and Thr were calculated values, and the others were measured values.

1.4 肝脏样品采集

仔猪腹膜注射 LPS 或生理盐水 4 h 后，静脉注射 80 mg/kg BW 的戊巴比妥钠麻醉，屠宰，取肝脏样品，立即投入液氮中冻存，随后转移至－80 ℃冰箱保存。

1.5 检测指标

1.5.1 肝脏相关能量指标浓度的测定

肝脏中 ATP、二磷酸腺苷（adenosine diphosphate,ADP）和一磷酸腺苷（adenosine monophosphate,AMP）浓度使用高效液相色谱法进行分析，参照 Hou 等[11]的方法。总腺苷酸（total adenine nucleotide,TAN）浓度和能荷（energy charges,EC）的计算参照下述公式：

TAN=ATP+ADP+AMP；

EC=（ATP+0.5ADP）/（ATP+ADP+AMP）。

1.5.2 mRNA 表达量测定

相关基因测定包括：己糖激酶 2（hexokinase2,*Hexok*2）、磷酸果糖激酶（phosphofructokinase,*L-PFK*）、丙酮酸脱氢酶（pyruvate dehydrogenase,*PDH*）、丙酮酸激酶（pyruvate kinase,*PK*）、异柠檬酸脱氢酶（isocitrate dehydrogenase,*ICDH*）、柠檬酸合成酶（citroyl synthetase,*CS*）、脂酰辅酶 A 氧化酶（acyl-coenzyme A oxidase,*ACO*）、肉碱酯酰转移酶 1（carnitine palmitoyltransferase1,*L-CPT*1）、腺甘酸活化蛋白激酶（AMP-activated protein kinase,*AMPK*）、沉默信息调节因子 1（silent information regulator1,*Sirt*1）以及过氧化物酶体增殖物活化受体协同刺激因子 1α（proliferator-activated receptor-γ coactivator 1α,*PGC*1*α*）。肝脏总 RNA 提取、cDNA 合成、实时荧光定量 PCR（Real-time

PCR）参照 Liu 等[12]的方法。Real-time PCR 引物序列（表 2）由宝生物工程（大连）有限公司合成。以甘油醛－3－磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,*GAPDH*）为内参基因，目的基因的 mRNA 表达量计算采用 Livak 等[13]的 $2^{-\Delta\Delta CT}$法。

1.6 统计分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行方差分析和 LSD 多重比较，结果用平均值±标准误来表示。以 $P<0.05$ 表示差异显著，$P<0.10$ 表示具有显著性趋势。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 2 Primer sequences of Real-time PCR

基因 Genes	引物序列 Primer sequence (5'—3')	退火温度 Annealing temperature/℃	扩增长度 Amplification length/bp
己糖激酶 2 *Hexok*2	F:CTCATCACAACCGTTACCA R:TGTCATTAGTGTCCTCATCC	60	119
磷酸果糖激酶 *L-PFK*	F:CTGCACCGCATCATGGA R:CCCCATCACCTCCAGAACA	60	84
丙酮酸脱氢酶 *PDH*	F:GCAGACTTACCGTTACCAT R:GATAGCCGAGTTCTTCCAA	60	248
丙酮酸激酶 *PK*	F:TCACTCCACAGACCTCAT R:TACCTAGCCACCTGATGT	60	123
异柠檬酸脱氢酶 γ *ICDHγ*	F:GGTGGAGAGCCTCAAGAT R:TGGTGGTGTTGTCTACGA	60	218
异柠檬酸脱氢酶 β *ICDHβ*	F:TGTGGTTCCTGGTGAGAG R:CGAGATTGAGATGCCGTAG	60	149
柠檬酸合成酶 *CS*	F:TCTCAGCTCAGTGCAGCCATTACA R:CTGCAACACAAGGTAGCTTTGCGA	60	145
脂酰辅酶 A 氧化酶 *ACO*	F:CTCGCAGACCCAGATGAAAT R:TCCAAGCCTCGAAGATGAGT	60	218
肉碱酯酰转移酶 1 *L-CPT*1	F:GGACCGCCACCTGTTCTGCCTCTA R:GCCCCCTCCGCTCGACACATAC	60	190
腺甘酸活化蛋白激酶 α1 *AMPKα*1	F:AAATCGGCCACTACATCCTG R:GGATGCCTGAAAAGCTTGAG	60	187
腺甘酸活化蛋白激酶 α2 *AMPKα*2	F:AACATGGACGGGTTGAAGAG R:CGCAGAAACTCACCATCTGA	60	193
沉默信息调节因子 1 *Sirt*1	F:CTGGAACAGGTTGCAGGAAT R:CCTAGGACATCGAGGAACCA	60	144

过氧化物酶体增殖物活化受体协同刺激因子 1α *PGC1α*	F:GATGTGTCGCCTTCTTGTTC R:CATCCTTTGGGGTCTTTGAG	60	93
甘油醛－3–磷酸脱氢酶 *GAPDH*	F:CGTCCCTGAGACACGATGGT R:GCCTTGACTGTGCCGTGGAAT	60	194

2 结 果

2.1 肝脏腺苷酸水平

由表 3 可知，与对照组相比，LPS 刺激显著降低了肝脏 ATP、ADP 和 TAN 浓度（P<0.05）。与 LPS 组相比，饲粮中添加 1.0%Gly 显著提高了肝脏 ATP 浓度和 EC 水平（P<0.05），显著降低了 AMP/ATP 值（P<0.05），并有降低 AMP 浓度的趋势（P<0.10）；饲粮中添加 2.0%Gly 有降低肝脏 AMP/ATP 值的趋势（P<0.10），对其他指标无显著影响（P>0.05）。

表 3 肝脏腺苷酸水平（鲜重基础）

Table 3 Adenylate purine levels in liver (wet weight basis)

项目 Items	对照组 Control group	LPS 组 LPS group	1.0%Gly 组 1.0% Gly group	2.0%Gly 组 2.0% Gly group	*P* 值 *P*-value		
					P_1	P_2	P_3
三磷酸腺苷 ATP/（μg/g）	373±23	286±26	371±23	347±33	0.031	0.035	0.121
二磷酸腺苷 ADP/（μg/g）	321±14	218±21	226±15	231±26	0.001	0.784	0.638
一磷酸腺苷 AMP/（μg/g）	904±71	800±38	647±78	734±50	0.247	0.095	0.458
总腺苷酸 TAN/（μg/g）	1 598±83	1 303±66	1 235±96	1 312±34	0.010	0.522	0.937
能荷 EC	0.336±0.017	0.301±0.014	0.390±0.024	0.351±0.030	0.274	0.010	0.125
一磷酸腺苷/三磷酸腺苷 AMP/ATP	2.47±0.25	2.90±0.23	1.80±0.20	2.25±0.29	0.236	0.005	0.078

P_1：对照组 vs. LPS 组 Control group vs. LPS group；P_2：LPS 组 vs. 1.0%Gly 组 LPS group vs. 1.0% Gly group；P_3：LPS 组 vs. 2.0%Gly 组 LPS group vs. 2.0% Gly group。下表同 The same as below。

2.2 肝脏糖酵解、三羧酸循环和脂肪酸 β–氧化相关基因的 mRNA 表达

由表 4 可知，与对照组相比，LPS 刺激显著提高了肝脏糖酵解中 *Hexok*2 和 *PK* 以及三羧酸循环中 *ICDHβ* 和 *CS* 的 mRNA 表达量（P<0.05），显著降低了肝脏 *L-PFK* 的 mRNA 表达量（P<0.05），并有提高肝脏 *PDH* 的 mRNA 表达量的趋势（P<0.10）。与 LPS 组相比，饲粮中添加 1.0%Gly 显著降低了肝脏 *Hexok*2 和 *CS* 的 mRNA 表达量（P<0.05）；饲粮中添加 2.0%Gly 显著降低了肝脏 *Hexok*2 和 *PK* 的 mRNA 表达量（P<0.05），并有降低肝脏 *CS* 的 mRNA 表达量的趋势（P<0.10）。

表 4 肝脏糖酵解、三羧酸循环和脂肪酸 β-氧化相关基因的 mRNA 表达

Table 4 mRNA expression of glycolysis, tricarboxylic acid cycle and fatty acids β-oxidation related genes in liver

项目 Items	对照组 Control group	LPS 组 LPS group	1.0%Gly 组 1.0% Gly group	2.0%Gly 组 2.0% Gly group	*P* 值 *P*-value		
					P_1	P_2	P_3
糖酵解 Glycolysis							
己糖激酶 2 *Hexok*2	1.00±0.18	36.38 ±3.36	24.96±3.23	23.62±2.90	<0.001	0.008	0.004
磷酸果糖激酶 *L-PFK*	1.00±0.15	0.61±0.03	0.79±0.03	0.66±0.04	0.002	0.116	0.699
丙酮酸脱氢酶 *PDH*	1.00±0.10	1.25±0.10	1.30±0.11	1.25±0.07	0.086	0.671	0.971
丙酮酸激酶 *PK*	1.00±0.06	2.89±0.30	2.44±0.13	2.22±0.20	<0.001	0.115	0.023
三羧酸循环 Tricarboxylic acid cycle							
异柠檬酸脱氢酶 γ *ICDHγ*	1.00±0.10	1.11±0.06	1.28±0.07	1.09±0.11	0.392	0.173	0.853
异柠檬酸脱氢酶 β *ICDHβ*	1.00±0.10	1.31±0.07	1.36±0.03	1.16±0.04	0.004	0.548	0.117
柠檬酸合成酶 *CS*	1.00±0.08	1.36±0.11	1.10±0.05	1.15±0.03	0.002	0.022	0.054
脂肪酸 β-氧化 Fatty acids β-oxidation							
脂酰辅酶 A 氧化酶 *ACO*	1.00±0.11	0.90±0.13	1.04±0.13	0.82±0.12	0.570	0.441	0.654
肉碱酯酰转移酶 1 *L-CPT*1	1.00±0.26	1.14±0.13	1.25±0.21	1.03±0.20	0.633	0.716	0.716

2.3 肝脏能量代谢相关调节因子的 mRNA 表达

由表 5 可知，与对照组相比，LPS 刺激显著提高了肝脏 *AMPKα*2 和 *Sirt*1 的 mRNA 表达量（$P<0.05$）。与 LPS 组相比，饲粮中添加 1.0%Gly 显著提高了肝脏 *AMPKα*1 的 mRNA 表达量（$P<0.05$）。

表 5 肝脏能量代谢相关调节因子的 mRNA 表达

Table 5 mRNA expression of energy metabolism related regulatory factors in liver

项目 Items	对照组 Control group	LPS 组 LPS group	1.0%Gly 组 1.0% Gly group	2.0%Gly 组 2.0% Gly group	*P* 值 *P*-value		
					P_1	P_2	P_3
腺甘酸活化蛋白激酶 α1 *AMPKα*1	1.00±0.09	1.07±0.04	1.37±0.05	1.15±0.13	0.570	0.023	0.517
腺甘酸活化蛋白激酶 α2 *AMPKα*2	1.00±0.13	1.92±0.09	1.92±0.18	1.95±0.23	0.001	0.994	0.901
沉默信息调节因子 1 *Sirt*1	1.00±0.11	1.78±0.19	1.80±0.23	1.66±0.21	0.009	0.927	0.658
过氧化物酶体增殖物活化受体协同刺激因子 1α *PGC*1*α*	1.00±0.14	1.53±0.45	1.26±0.55	1.12±0.53	0.416	0.674	0.527

3 讨 论

机体内直接供能的物质是 ATP。ATP 水解为 ADP 和正磷酸或水解为 AMP 和焦磷酸时，能释放出大量的能量。TAN 是 ATP、ADP 和 AMP 三者之和，其大小反映了线粒体生

成高能磷酸化合物的能力、氧化呼吸的活性和细胞的能量储备[14]。EC 水平反映了细胞内高能磷酸键在 ATP、ADP 和 AMP 之间的相互转换，可有效评估能量储备状态[15]。AMP/ATP 值受 ATP 的调控，应激反应时，ATP 产生减少或利用增加，可使细胞内 AMP/ATP 值升高，激活 AMPK，进而激发一系列反应来恢复细胞内的能量平衡[14]。

本试验结果表明，在 LPS 注射 4 h 后，肝脏 ATP、ADP 和 TAN 浓度显著降低，表明 LPS 刺激抑制了肝脏线粒体能量代谢，ATP 动态平衡被打破。Kang 等[15]也发现了类似的结果。饲粮中添加 Gly 显著提高肝脏 ATP 浓度和 EC 水平，降低肝脏 AMP 浓度和 AMP/ATP 值。与我们的研究结果类似，周军利等[16]在乳鼠的研究发现，Gly 处理可缓解心肌细胞 ATP 浓度下降，改善细胞能量状况。以上结果及分析表明，Gly 可缓解 LPS 刺激导致的能量代谢障碍，促进能量生成。

糖酵解、三羧酸循环和脂肪酸β–氧化是机体中重要的能量代谢途径。Hexok2、PFK和PK可催化糖酵解中主要的不可逆反应，促使ATP和丙酮酸产生[17-19]。丙酮酸在PDH的作用下氧化脱羧，生成乙酰辅酶A，进而进入三羧酸循环产ATP[5]。CS是三羧酸循环第1步反应的限速酶，能决定乙酰辅酶A进入三羧酸循环的速率[20]。ICDH也是三羧酸循环中的关键酶，有3种形式，分别是ICDHα、ICDHβ和ICDHγ，其中ICDHβ和ICDHγ可以将细胞质中的代谢中间产物运往线粒体，进行三羧酸循环[21]。另外，脂肪酸β–氧化同样是机体产能的重要途径，ACO和L-CPT1是该过程中的关键酶[5]。

本试验结果显示，在LPS注射4 h后，糖酵解中*Hexok*2、*PK*、*PDH*以及三羧酸循环中*ICDHβ*和*CS*的mRNA表达量显著提高。与本试验结果相似，Sun等[22]研究表明，注射LPS的生长猪背最长肌中Hexok和PK的活性升高。饲粮中添加Gly显著降低了*Hexok*2、*PK*和*CS*的mRNA表达量。Moura等[23]研究表明，在幼鼠体内注射Gly显著抑制了脑纹状体CS的活性。这可能是因为Gly提高了ATP浓度，从而抑制了糖酵解和三羧酸循环限速酶的mRNA表达。本试验发现，Gly对脂肪酸β–氧化关键酶*ACO*和*L-CPT*1 mRNA表达量无显著影响，原因可能是在LPS刺激早期，Gly主要是通过影响肝脏糖酵解和三羧酸循环来对能量代谢进行调控，而对肝脏脂肪酸β–氧化无显著影响。

AMPK和Sirt1是细胞内的能量感受器，在能量限制的状态下可被激活，并通过磷酸化、去乙酰化作用激活PGC1α[14]。当细胞中能量储存减少时，AMP/ATP值升高，AMPK被激活，通过限制合成代谢和促进分解代谢，增加ATP的生成来维持机体稳态[14]。Sirt1与能量代谢包括糖异生和脂质累积等细胞生物学功能有着密切的关系[24]，它能够降低脂肪酸氧化相关基因mRNA的表达[25]。PGC1α是与能量代谢关系密切的转录辅助活化因子[26]，在葡萄糖和脂肪酸代谢等过程中起着重要作用[14]。本试验结果表明，LPS注射4 h后，仔猪肝脏*AMPKα*2和*Sirt*1的mRNA表达量显著提高。而饲粮中添加Gly也提高了肝脏*AMPKα*1的mRNA表达量，说明Gly不能缓解LPS刺激对AMPK相关信号的影响。这可能是因为Gly不是通过影响AMPK、Sirt1和PGC1α来影响肝脏能量代谢的。

4 结 论

① 饲粮中添加Gly能够通过调节糖酵解和三羧酸循环代谢途径中*Hexo*k2、*PK*和*CS*等相关酶的表达，改善LPS刺激导致的断奶仔猪肝脏能量代谢紊乱。

② 饲粮中添加Gly对脂肪酸β–氧化无显著影响。

③ Gly不是通过影响AMPK、Sirt1和PGC1α来影响肝脏能量代谢的。

④ 考虑到不同水平Gly对仔猪肝脏能量水平的影响以及经济因素，建议采用1%Gly添加量。

参考文献：

[1] 刘玉兰,石尹霞,鲁晶,等.脂多糖刺激对断奶仔猪下丘脑－垂体－肾上腺轴*PPAR γ*表达的影响[J].中国畜牧杂志,2011,47(1):25–28.

[2] SCHMÖCKER C,WEYLANDT K H,KAHLKE L,et al.Omega-3 fatty acids alleviate chemically induced acute hepatitis by suppression of cytokines[J].Hepatology,2007,45(4):864–869.

[3] ZHONG Z,ENOMOTO N,CONNOR H D,et al.Glycine improves survival after hemorrhagic shock in the rat[J].Shock,1999,12(1):54–62.

[4] 谷俊朝,马涛,王宇.甘氨酸保护作用机制与相关疾病探讨[J].北京医学,2005,27(9):560–563.

[5] 周顺伍.动物生物化学[M].北京:化学工业出版社,2008.

[6] 袁平戈,张大志.还原型谷胱甘肽的作用机制及临床应用[J].药品评价,2006,3(5):385–390.

[7] WANG W,DAI Z,WU Z,et al.Glycine is a nutritionally essential amino acid for maximal growth of milk-fed young pigs[J].Amino Acids,2014,46(8):2037–2045.

[8] WU G.Amino acids:metabolism,functions,and nutrition[J].Amino Acids,2009,37(1):1–17.

[9] WU G,WU Z,DAI Z,et al.Dietary requirements of “nutritionally non-essential amino acids” by animals and humans[J].Amino Acids,2013,44(4):1107–1113.

[10] LIU Y L,HUANG J J,HOU Y Q,et al.Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide in weaned pigs[J].British Journal of Nutrition,2008,100(3):552–560.

[11] HOU Y Q,YAO K,WANG L,et al.Effects of α-ketoglutarate on energy status in the intestinal mucosa of weaned piglets chronically challenged with lipopolysaccharide[J].British Journal of Nutrition,2011,106(3):357–363.

[12] LIU Y L,CHEN F,ODLE J,et al.Fish oil enhances intestinal integrity and inhibits TLR4 and NOD2 signaling pathways in weaned pigs after LPS challenge[J].The Journal of Nutrition,2012,142(11):2017–2024.

[13] LIVAK K J,SCHMITTGEN T D.Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J].Methods,2001,25(4):402–408.

[14] PI D A,LIU Y L,SHI H F,et al.Dietary supplementation of aspartate enhances intestinal integrity and energy status in weanling piglets after lipopolysaccharide challenge[J].The Journal of Nutritional Biochemistry,2014,25(4):456–462.

[15] KANG P,LIU Y L,ZHU H,et al.The effect of aspartate on the energy metabolism in the liver of weanling pigs challenged with lipopolysaccharide[J].European Journal of Nutrition,2015,54(4):581–588.

[16] 周军利,黄跃生,党永明,等.甘氨酸对缺血缺氧心肌细胞能量代谢的影响[J].现代生物医学进展,2008,8(6):1093–1095.

[17] WOLF A,AGNIHOTRI S,MICALLEF J,et al.Hexokinase 2 is a key mediator of aerobic glycolysis and promotes tumor growth in human glioblastoma multiforme[J].The Journal of Experimental Medicine,2011,208(2):313–326.

[18] CURRIE P D,SULLIVAN D T.Structure and expression of the gene encoding phosphofructokinase (PFK) in *Drosophila melanogaster*[J].The Journal of Biological Chemistry,1994,269(40):24679–24687.

[19] ZANELLA A,BIANCHI P,BARONCIANI L,et al.Molecular characterization of *PK-LR* gene in pyruvate kinase-deficient Italian patients[J].Blood,1997,89(10):3847–3852.

[20] WIEGAND G,REMINGTON S J.Citrate synthase:structure,control,and mechanism[J].Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry,1986,15(1):97–117.

[21] MACDONALD M J,BROWN L J,LONGACRE M J,et al.Knockdown of both mitochondrial isocitrate dehydrogenase enzymes in pancreatic beta cells inhibits insulin secretion[J].Biochimica et Biophysica Acta,2013,1830(11):5104–5111.

[22] SUN H,HUANG Y,YIN C,et al.Lipopolysaccharide markedly changes glucose metabolism and mitochondrial function in the *Longissimus* muscle of pigs[J].Animal,2016,10(7):1204–1212.

[23] MOURA A P,GRINGS M,PARMEGGIANI B D S,et al.Glycine intracerebroventricular administration disrupts mitochondrial energy homeostasis in cerebral cortex and striatum of young rats[J].Neurotoxicity Research,2013,24(4):502–511.

[24] LAVU S,BOSS O,ELLIOTT P J,et al.Sirtuins-novel therapeutic targets to treat age-associated diseases[J].Nature Reviews Drug Discovery,2008,7(10):841–853.

[25] LAGOUGE M,ARGMANN C,GERHART-HINES Z,et al.Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1α[J].Cell,2006,127(6):1109–1122.

[26] 李博,田瑞霞,杨卫景,等.PGC-1α的功能与代谢病[J].中国生物化学与分子生物学报,2011,27(11):1013–1018.

Regulatory Role of Glycine on Energy Metabolism and Its Related Genes' Expression in Liver of Piglets after Lipopolysaccharide Challenge

ZHANG Lin WANG Xiuying WU Huanting WANG Haibo CHEN Shaokui ZHU Huiling LIU Yulan*

(*Hubei Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science*, *Wuhan Polytechnic University*, *Wuhan* 430023, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of glycine (Gly) on energy metabolism and the mRNA expression of the key enzymes and the regulatory factors involving in energy metabolism in liver of piglets after lipopolysaccharide (LPS) challenge. Twenty four Duroc×Landrace×Yorkshire piglets were randomly assigned into 4 groups with 6 replicates each and 1 pig in each replicate. The four groups were: 1) control group (basal diet); 2) LPS group (LPS+basal diet); 3) 1.0% Gly group (LPS+basal diet+1.0% Gly); and 4) 2.0% Gly group (LPS+basal diet+2.0% Gly). On the 28th day, the piglets in experimental groups were injected intraperitoneally with 100 μg/kg BW LPS, and the piglets in the control group were injected with the same dose of physiological saline. All piglets were slaughtered at 4 h after LPS or saline injection, and the liver samples were collected for further analysis. The results showed as follows: 1) compared with LPS group, supplementation of 1.0% Gly significantly increased liver ATP concentration and energy charge (EC) level of pigs ($P<0.05$), significantly decreased the ratio of AMP to ATP ($P<0.05$), and had a tendency to decrease AMP concentration ($P<0.10$); supplementation of 2.0% Gly had a tendency to decrease the ratio of AMP to ATP ($P<0.10$). 2) Compared with LPS group, supplementation of 1.0% Gly significantly decreased the mRNA expression of liver hexokinase 2 (*Hexok*2) and citroyl synthetase (*CS*) ($P<0.05$). In addition, supplementation of 2.0% Gly significantly decreased the mRNA expression of liver *Hexok*2 and pyruvate kinase (*PK*) ($P<0.05$), and had a tendency to decrease the mRNA expression of liver *CS* ($P<0.10$). 3) Compared with LPS group, supplementation of 1.0% Gly significantly increased the mRNA expression of hepatic AMP-activated protein kinase *α*1 (*AMPKα*1) ($P<0.05$). These results indicate that dietary supplementation of Gly can attenuate energy metabolism disorder caused by LPS stimulation in liver of weaning piglets, and regulate the gene expression of the key enzymes in glycolysis and tricarboxylic acid cycle.

Key words: piglets; LPS; glycine; liver; energy metabolism

---

*Corresponding author, professor, E-mail: yulanflower@126.com (责任编辑 田艳明)